

⑨ 日本国特許庁(JP)

⑩ 特許出願公開

⑪ 公開特許公報(A) 平2-120655

⑫ Int. Cl.<sup>2</sup>

識別記号

序内整理番号

⑬ 公開 平成2年(1990)5月8日

G 01 N 27/327

7363-2G  
7363-2G

G 01 N 27/30

3 5 3

J  
R

審査請求 未請求 請求項の数 1 (全3頁)

⑭ 発明の名称 グルコースセンサ

⑮ 特 願 昭63-273130

⑯ 出 願 昭63(1988)10月31日

⑰ 発 明 者 後 藤 正 男 神奈川県藤沢市辻堂新町4-3-1 エヌオーケー株式会社

⑱ 発 明 者 高 津 一 郎 神奈川県藤沢市辻堂新町4-3-1 エヌオーケー株式会社

⑲ 出 願 人 エヌオーケー株式会社 東京都港区芝大門1丁目12番15号

⑳ 代 理 人 弁理士 吉田 儀夫

要 約

1 発明の名称

グルコースセンサ

2 特許請求の範囲

1. 長さ方向に平載された中空針状体の切断面に結晶層を介してグルコースオキシダーゼ酵素固定化平板状作用極を酵素固定化面極を内側に向けて配置してなるグルコースセンサ。

3 発明の詳細な説明

〔適用上の利用分野〕

本発明は、グルコースセンサに関する。更に詳しくは、アンペロメトリ型のグルコースセンサに関する。

〔従来の技術〕

従来のアンペロメトリ型グルコースセンサにおいては、2個の電極を並置しており、その内の1個は対極であり、他の1個は作用極であって、作用極にはグルコースオキシダーゼ酵素(600)が固定化されている。このセンサの原理は、グルコースと600との反応に伴ない作用極上で発生する電

極発射電流を定電流することにより、グルコース濃度を決定し得る点にある。

ところで、グルコースセンサの一種の形態として、針状構造のものが挙げられるが、従来のアンペロメトリ型グルコースセンサでは、これら2個の電極が例えばガラス板などの平板状のものを並行に並べて構成させたものが代表例であり、生体内に挿入し易く血漿液などの測定に好適に使用し得る針状電極としたものは未だ実用化されていない。これは、形状そのものに起因する製作の困難さや酵素固定化の困難さに由来しているものと考えられる。

〔発明が解決しようとする課題〕

本発明の目的は、このような問題点を克服し、酵素固定化や製作の容易性が得られるアンペロメトリ型グルコースセンサを提供することにある。

〔課題を解決するための手段〕

かかる目的を達成せしめる本発明のグルコースセンサは、長さ方向に平載された中空針状体の切断面に結晶層を介してグルコースオキシダーゼ

静電固定化平板状作用層を静電固定化前側を内側に折って接合してなる。

図面の第1例には、本発明に係るグルコースセンサの一例が接合前の状態で斜視図として示されている。即ち、針状対極1は、一般に外径が約1mm以下の白金、金、チタンなどの中空針の長さ方向の半截物2であって、その先端部3が挿入し易いように斜針状に形成されている。そして、半截された両断面には、一般に接合面を兼ねた絶縁層4,4'、例えばエポキシ樹脂接着剤、シリコン接着剤あるいはガラスなどが塗布されている。

一方、この絶縁層を介して中空針状対極に接合されるグルコースオキシダーゼ酵素固定化平板状作用層6は、厚さ約0.05〜1mm程度の白金、チタンなどの平板7であって、一般にその長さが対極1の片断部とGODを固定化7せしめている。

GODの作用面上への固定化に際しては、膜形成材料、例えば餅糊セルロースなどのセルロース膜、ポリビニルピクリル、ポリスルホンなどの合成

高分子物質、あるいはセルロース、キチン、アルブミン、アルギン酸ナトリウム、アガロース、カラギーナンなどの天然高分子物質が用いられ、それらを可溶性溶媒に溶解させたドープ液として調製した後、浸漬法、ドロップ法、スピナ法などにより作用層面上に塗布する。また、膜形成材料として、分子中に光吸収基としてスチルバソリウム基、ジアゾ基などの吸光性を有するポリビニルアルコールなどの水性非架橋性重合体なども水溶液として用いることができる。

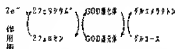
これらの膜形成材料によって形成される膜とへのGODの固定化は、グルタルアルデヒド、カルボジイミドなどを用いる共有結合法、イオン結合吸着法、架橋法など一般的に用いられている方法によって行われる。あるいは、膜形成材料の溶解中などにGODを混合しておく、膜形成時にこれらの固定化方法により固定化をせしめることでもある。この場合、光架橋性重合体が用いられたときには、その光架橋はGODを失活させない炭素である約350〜450nmの近紫外線による光照射によって行わ

れる。

このような固定化GODによるグルコースの定量は、

GOD  
 $\text{グルコース} + \text{O}_2 \rightarrow \text{グルコン酸} + \text{H}_2\text{O}_2$   
 なる反応により、生成した $\text{H}_2\text{O}_2$ を作用層での酸化電流測定として検出する。

また、電子メディエータ(電子伝達体)であるフェロセン化合物、具体的にはフェロセン[ビス(シクロペンタジエニル)鉄][ $\text{PF}_6$ ]またはその誘導体、例えば1'-ジメチルフェロセンなどを用い、それを作用層面上に真鍮箔着せしめた後、この両断面にGODを一様に用いられる固定化法によって固定化せしめ、あるいはGODを固定化させた後フェロセン化合物をそこに滴下法などで塗布し、



この場合には、グルコース1分子が酸化されるのに、2電子の作用層への移動が行われるので、これを電流値変化として検出することができる。

かかるGOD固定化平板状作用層の中空針状対極への接合は、静電固定化前側が内側に向けられるようにして行われる。なお、対極および作用層からは、それぞれリード線8,8'が引出しなされており、測定時には、これらの電極とは別に参照電極も用いられる。

#### 【発明の効果】

本発明に係る斜針状のアンペロメトリ型グルコースセンサは、グルコースオキシダーゼ酵素の固定化が平板状の作用層面上に対して行われるのでそこに閉塞性はなく、また針状電極という形状に起因する製作上の困難性も従前認められず、全体内に挿入し易く血管道などの測定に針道に使用し得るグルコースセンサとして提供される。

#### 【実施例】

次に、実施例について本発明を説明する。

#### 実施例1

第1例に示された図様のグルコースセンサを製作した。中空針状対極は、内径0.8mm、外径1.0mm、長さ3mmの白金中空針を平鋸し、先端部を斜切し

たものであり、平板状作用面としては、 $1.0 \times 2.5 \times 0.2 \text{ mm}$ の寸法のものが用いられ、その片面側にGDBを固定化させた。

GDBの固定化は、GDB30mgおよび牛血清アルブミン30mgをpH7.0の5mMトリス-マレイン酸緩衝液0.4mlに溶解し、その4μlを平板状作用面に滴下し、4℃で4時間放置した後、そこに1.1'-ジメチルフェニルエーテルのアセトン溶液4μlを滴下し、再び4℃で4時間放置することにより行われた。

このGDB固定化平板状作用面を、酵素固定化面を内側に向けて、中空針状対面にその両断面に施されたエポキシ樹脂接着剤層を介して装着し、4℃で48時間放置した。

これらの各電極をポテンシオスタットに接続し、対極-作用電極間電位50mV、作用極-参照電極(Ag/AgCl)間電位200mVとして、グルコースに對する応答を測定した。測定は、37℃でpH7.0の5mMトリス-マレイン酸緩衝液を使用して行われた。その結果は、第2図のグラフに示されるように、グルコース濃度50~200mg/dlの範囲内で、応答

電流の定常値との間に良好な相関関係が認められた。

#### 4 図面の概略を説明

第1図は、本発明のグルコースセンサの一態様を接合部の状態で示した斜視図である。また、第2図は、このグルコースセンサを用いた単一のグルコース濃度と出力電流との関係を示すグラフである。

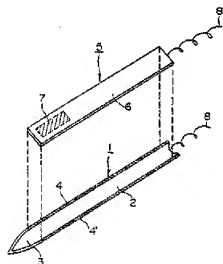
#### (符号の説明)

- 1.....針状対面
- 2.....中空針の平截物
- 4.....絶縁層
- 5.....GDB固定化平板状作用面
- 6.....平板
- 7.....固定化GDB

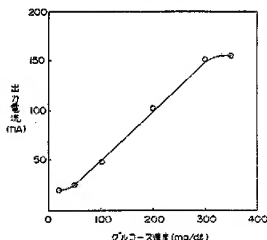
代理人

井 堀 士 吉 田 俊 夫

第1図



第2図



# PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : **02-120655**

(43)Date of publication of application : **08.05.1990**

(51)Int.Cl.

**G01N 27/327**

(21)Application number : **63-273130**

(71)Applicant : **NOK CORP**

(22)Date of filing : **31.10.1988**

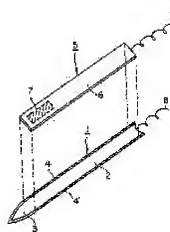
(72)Inventor : **GOTO MASAO  
TAKATSU ICHIRO**

## (54) GLUCOSE SENSOR

(57)Abstract:

**PURPOSE:** To facilitate the immobilization of enzyme and manufacturing by a method wherein a glucose oxidase immobilizing flat plate-shaped acting electrode is bonded to the cut surface of a hollow needle like opposed electrode through an insulating layer in such a state that the enzyme immobilizing surface of the acting electrode is turned toward the inside.

**CONSTITUTION:** A hollow needle like opposed electrode 1 is formed by obliquely cutting the leading end part of the half cut body of a platinum hollow needle. Glucose oxidase (GOD) 7 is immobilized on the single surface of a GOD immobilizing flat plate-shaped acting electrode 5. The acting electrode 5 is bonded to the electrode 1 through the epoxy resin adhesive layer applied to the cut surface of the electrode 1 so that the enzyme immobilizing surface of the acting electrode 5 is turned toward the inside. By this method, a sensor easy in the immobilization of enzyme and manufacturing, easily inserted in a living body and suitable for measuring a sugar level in blood is obtained.



## LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's  
decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office